Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Article
Vol. 16, No.2, 2024, p. 157-170

Chemical Composition, Digestibility and *in vitro* Fermentation Variables of Mixed Silage from Different Levels of *Paulownia* Leaves and Forage Corn

Ayoub Azizi[1*]

۱- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Lorestan, Iran.
*Corresponding Author's Email: azizi.ay@lu.ac.ir

Received: 19-07-2023 Revised: 06-10-2023 Accepted: 17-10-2023 Available Online: 17-10-2023	**How to cite this article:** Azizi, A. (2024). Chemical composition, digestibility and *in vitro* fermentation variables of mixed silage from different levels of *Paulownia* leaves and forage corn. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16*(2), 157-170. (in Persian with English abstract). http://doi.org//10.22067/ijasr.2023.83509.1161

Introduction: The dry climate and water scarcity in most areas of Iran caused to serious restriction in planting fodder. Therefore, it is very important to find new fodder sources to feed ruminants in order to reduce the ration costs. One of the new sources of fodder that may have a favorable nutritional value are plants of the *Paulowniaceae* family in China, East Asia and some parts of Iran. Several types of *Paulownia* are known in the world. These plants are known for their high growth rate and intense photosynthesis, which are specific to C_4 plants, and with wide leaves with a diameter of about 90 cm. The commercial production of Paulownia wood generates a large quantity of leaves, which are typically used as natural fertilizers. At the age of about 6 to 8 years, the production leaf of each *Paulownia* tree reaches about 100 kg. When the leaves have a favorable nutritional value, they can be used as fodder in feeding ruminants. In Iran, there has been no study on the nutritional value of *Paulownia* leaves for use in animal feed. Therefore, the aim of this research was to investigate the chemical composition of *Paulownia* leaves and the chemical composition, gas production parameters, digestion and fermentation characteristics of the silages from the mixture of different levels of *Paulownia* leaves (Tebjoo hybrid variety) and fodder corn *in vitro*.

Materials and Methods: The corn forage and *Paulownia* leaves (Tebjoo hybrid variety) were prepared. At first, the chemical composition of corn forage and Paulownia leaf samples was determined based on the conventional methods. Then, both forages were chopped into 2-4 cm sizes using a hand chopper for silage preparation. Experimental treatments included silages containing different ratios of fodder corn and *Paulownia* leaves (0:100, 75:25, 50:50, 25:75 and 0:100). The materials were compacted in the plastic containers and the silage period lasted 60 days. Determining the chemical composition of fresh fodders and the nutritional value of experimental silages including chemical composition, *in vitro* gas production and fermentation parameters, digestibility and enzyme activity were carried out based on a completely random design.

Results and Discussion: Results indicated that dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), ether extract (EE), lignin, non-fibrer carbohydrates (NFC) and water soluble carbohydrates content of fresh *Paulownia* leaves were 266, 911, 173, 402, 201, 35.5, 86.4, 404 and 91.2 g/kg DM, respectively. The mentioned chemical composition in *Paulownia* silage were 273, 902, 164, 393, 191, 38.8, 74.5, 386 and 25.4 g/kg DM, respectively. With increasing the proportion of *Paulownia* leaf in silage, DM, CP, lignin, EE, ammonia nitrogen concentration increased linearly (P<0.05). However, OM, NDF and ADF decreased linearly (P<0.05). By increasing the ratio of *Paulownia* leaf to corn in the silage, *in vitro* gas production (GP) in 24, 36 and 48 h, GP potential (coefficient b) and short-chain volatile fatty acids concentration decreased linearly (P<0.05), although it linearly increased ammonia nitrogen concentration and microbial protein synthesis (P<0.05). The carboxymethyl cellulase and filter paper degrading activities decreased linearly with increasing the inclusion level of *Paulownia* leaf in silage (P<0.05). However,

http://doi.org//10.22067/ijasr.2023.83509.1161

ruminal alpha-amylase and protease activity showed a linear increase (P<0.05).

Conclusion: The present study showed that the *Paulownia* leaf of Tebjoo hybrid variety has a favorable nutritional value as a new forage source in animal nutrition. Also, the preparation of silages including different ratio of *Paulownia* leaves and corn is recommended for animal feeding in the conditions of significant shortage of protein resources in the country. Future research is warranted to investigate how *Paulownia* leaf affect ruminant performance.

Keywords: Chemical composition, Corn forage, Digestibility, Fermentation parameters, *Paulownia* leaf, Silage.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، ص. ۱۷۰-۱۵۷

تعیین ترکیب شیمیایی، قابلیت هضم و متغیرهای تخمیر برون‌تنی سیلاژ حاصل از مخلوط سطوح مختلف برگ *پالونیا* و ذرت علوفه‌ای

ایوب عزیزی[۱*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۲۸
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۷/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۵

چکیده

هدف از انجام پژوهش حاضر، تعیین ارزش غذایی برگ *پالونیا* و سپس تعیین ترکیب شیمیایی، تولید گاز، هضم‌پذیری و فراسنجه‌های تخمیر برون‌تنی سیلاژ مخلوط سطوح مختلف برگ *پالونیا* و ذرت علوفه‌ای در شرایط برون‌تنی بود. تیمارهای آزمایشی شامل سیلاژهای حاوی نسبت‌های مختلف ذرت علوفه‌ای و برگ *پالونیا* (۱۰۰:۰، ۷۵:۲۵، ۵۰:۵۰، ۲۵:۷۵ و ۰:۱۰۰) بود. نتایج نشان داد که محتوای ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، عصاره اتری، لیگنین، کربوهیدارت‌های غیر فیبری و کربوهیدرات‌های محلول برگ *پالونیای* تازه به‌ترتیب برابر ۲۶۶، ۹۱۱، ۱۷۳، ۴۰۲، ۲۰۱، ۳۵/۵، ۸۶/۴، ۳۰۱ و ۹۱/۲ گرم در کیلوگرم ماده خشک بود. ترکیبات مذکور در سیلاژ برگ *پالونیا* به‌ترتیب برابر ۲۷۳، ۹۰۲، ۱۶۴، ۳۹۳، ۱۹۱، ۳۸/۸، ۷۴/۵، ۳۸۶ و ۲۵/۴ گرم در کیلوگرم ماده خشک به‌دست آمد. با افزایش نسبت برگ *پالونیا* و کاهش سهم ذرت علوفه‌ای در سیلاژهای مخلوط، درصد ماده خشک، پروتئین خام، لیگنین، عصاره اتری، کربوهیدارت‌های غیر فیبری و غلظت نیتروژن آمونیاکی سیلاژ به‌طور خطی افزایش یافت ($P<0.05$). امّا، درصد ماده آلی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی با افزایش برگ *پالونیا* کاهش خطی معنی‌داری نشان دادند ($P<0.05$). با افزایش سطح برگ *پالونیا* در مخلوط سیلویی، تولید گاز برون‌تنی در زمان‌های ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت، پتانسیل تولید گاز (ضریب b) و غلظت اسیدهای چرب فرار به‌طور خطی کاهش یافت ($P<0.05$)، هر چند افزایش سطح برگ *پالونیا* سبب افزایش خطی غلظت نیتروژن آمونیاکی و سنتز پروتئین میکروبی شد ($P<0.05$). فعالیت آنزیم کربوکسی متیل سلولاز و فعالیت تجزیه کاغذ صافی با افزایش سطح برگ *پالونیا* در سیلاژ به‌طور خطی کاهش یافت ($P<0.05$). امّا فعالیت آلفا آمیلاز و پروتئاز شکمبه افزایش خطی نشان دادند ($P<0.05$). در کل، نتایج تحقیق نشان داد که برگ *پالونیا* دارای ارزش غذایی مطلوبی جهت استفاده در تغذیه دام بویژه در شرایط کمبود منابع پروتئینی به‌عنوان یک منبع علوفه‌ای جدید است. به‌علاوه، سیلو کردن سطوح مختلف برگ *پالونیا* مخلوط با ذرت علوفه‌ای به‌عنوان یک روش نگهداری برای آن قابل توصیه است و سبب بهبود محتوای نیتروژن و کربوهیدرات‌های غیر فیبری سیلاژ نیز می‌شود.

واژه‌های کلیدی: برگ *پالونیا*، ترکیب شیمیایی، ذرت علوفه‌ای، سیلاژ، فراسنجه‌های تخمیر، گوارش‌پذیری

مقدمه

منابع علوفه‌ای ایران عمدتاً شامل یونجه، ذرت علوفه‌ای و کاه غلات هستند. کمبود منابع آبی از یک طرف و زیاد بودن نیاز آبی اغلب گیاهان علوفه‌ای رایج از طرف دیگر، سبب شده است تا تولید علوفه با کیفیت در کشور با محدودیت جدی مواجه شود. همچنین، نوع ارقام مورد استفاده، مدیریت کاشت، داشت و برداشت علوفه و مدیریت نگهداری آن نیز سبب کاهش سطح و کیفیت علوفه تولیدی شده است. بنابراین، یافتن و استفاده بهینه منابع علوفه‌ای جدید به‌منظور استفاده در تغذیه نشخوارکنندگان، به‌ویژه اگر سبب کاهش آلودگی‌های زیست محیطی (گازهای گلخانه‌ای) نیز شود، بسیار مورد توجه است (Huang *et al.*, 2021). یک منبع علوفه‌ای جدید ضمن دارا بودن قابلیت رشد سریع و مقاومت به شرایط گرم و خشک، باید ارزش غذایی مناسبی نیز داشته باشد (Huang *et al.*, 2021). یکی از منابع علوفه‌ای جدید که ممکن است دارای ارزش غذایی مطلوبی

۱- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: azizi.ay@lu.ac.ir)
http://doi.org//10.22067/ijasr.2023.83509.1161

باشد، گیاهان خانواده *پالونیای* (*Paulowniaceae*) چینی و آسیای شرقی هستند (Garcia-Morote *et al.*, 2014). چندین گونه *پالونیا* در دنیا شناخته شده است که مهم‌ترین آن‌ها شامل گونه‌های آلبیفلوا (*P. albiphloea*)، آسترالیس (*P. australis*)، الونگاتا (*P. elongata*)، فارگسی (*P. fargesii*)، فوتونئی (*P. fortunei*)، کاتالپیفولیا (*P. catalpifolia*)، کاواکامی (*P. kawakamii*) و تومنتوسا (*P. tomentosa*) هستند (Yadav *et al.*, 2013; Bodnar *et al.*, 2014). این گیاهان به‌دلیل سرعت رشد زیاد و فتوسنتز شدیدی که مختص گیاهان C_4 است و برگ‌های پهن با قطر حدود ۹۰ سانتی‌متر شناخته می‌شوند (Icka *et al.*, 2016). از تنه این درختان در صنعت چوب استفاده می‌شود، لذا تولید تجاری چوب *پالونیا* باعث تولید توده بسیار زیادی از برگ می‌گردد که معمولاً به‌عنوان کود طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در حدود شش تا هشت سالگی، برگ تولیدی هر درخت *پالونیا* به‌حدود ۱۰۰ کیلوگرم می‌رسد. زمانی‌که برگ‌ها دارای ارزش غذایی مطلوبی هستند، می‌توان از آن‌ها به‌عنوان علوفه در تغذیه نشخوارکنندگان استفاده نمود. اخیراً، در مطالعه‌ای محتوای ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، عصاره اتری، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF)[1]، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)[2]، کربوهیدرات‌های غیر فیبری (NFC)[3] و نشاسته برگ *پالونیا* به‌ترتیب، ۲۷۵، ۸۸۶، ۱۷۵، ۲۴/۴، ۳۴۱، ۲۹۵، ۳۴۵ و ۱۹/۶ گرم در کیلوگرم ماده خشک و محتوای انرژی خام آن ۱۴/۲ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک گزارش شد (Huang *et al.*, 2021). از طرفی، برگ‌های *پالونیا* دارای ترکیبات فنولی و به‌خصوص اسیدهای فنولی، ساپونین و فلاونوئید هستند که تغذیه آن‌ها به دام ممکن است سبب تعدیل تخمیر شکمبه‌ای و بروز آثار مفیدی مانند بهبود متابولیسم نیتروژن و سنتز پروتئین میکروبی و کاهش تولید گاز متان شود (Huang *et al.*, 2021; Ozelcam *et al.*, 2021). با توجه به کمبود میزان سیلاژ ذرت تولیدی در کشور و نیز معایبی از قبیل زیاد بودن میزان رطوبت (ماده خشک حدود ۲۲-۲۰ درصد) و محتوای کم پروتئین خام، به نظر می‌رسد که می‌توان با استفاده از مخلوطی از ذرت علوفه‌ای و برگ‌های تازه *پالونیا*، سیلاژی با خصوصیات و ارزش غذایی مطلوب‌تر تهیه کرده، و بخشی از کمبودهای خوراک دام به‌خصوص در مزارع کوچک پرورش دام را مرتفع نمود. این نکته را نیز باید مد نظر داشت که زمان برداشت برگ‌های *پالونیا* در دو ماه اول پاییز هر سال بوده، که این خود همزمان با برداشت ذرت علوفه‌ای در مناطق سردسیر کشور است. کشت و پرورش درخت *پالونیا* و به‌خصوص واریته‌های اصلاح شده و هیبرید آن به‌منظور زراعت چوب در بسیاری از مناطق ایران در حال گسترش است که از منظر تغذیه دام، می‌توان به برگ‌های این درخت به دید ارزش افزوده توجه نمود و آن را در جیره غذایی دامها گنجاند. درباره سطح زیر کشت درخت *پالونیا* در کشور اطلاعات دقیقی در دست نیست، امّا کشت این درخت در کشور به‌طور فزاینده‌ای در حال افزایش است. بر اساس اطلاعات موجود، پراکنش آن بیشتر در استان‌های فارس، اصفهان، مازندران، گیلان، گلستان و خراسان شمالی می‌باشد. تاکنون عمده مطالعاتی که روی برگ *پالونیا* به‌عنوان خوراک دام صورت گرفته، تغذیه برگ خشک یا سیلاژ آن بوده است. اخیراً، در مطالعه‌ای افزودن شش درصد سیلاژ *پالونیا* به‌جای سیلاژ یونجه بر حسب ماده خشک در جیره گاو شیری سبب افزایش pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی، پروپیونات، ایزو والرات، والرات و جمعیت پروتوزوای *ایزوتریش*، *داسیتریشا رومیننتیوم*، *ایزوتریشا پروستوماتا* و *ایزوتریشا اینتستینالیس* و کاهش غلظت استات شکمبه شد، هر چند گوارش‌پذیری ماده خشک، ماده آلی و NDF تحت تأثیر قرار نگرفت (Huang *et al.*, 2022). در مطالعه مذکور، کاربرد سیلاژ برگ *پالونیا* در جیره سبب افزایش جمعیت کل گونه‌های باکتریایی شکمبه به‌جز *رومینوکوکوس فلاووفاسیانس*، *رومینوکوکوس آلبوس* و گونه‌های *لاکتوباسیلوس* شد، و جمعیت کل آرکی باکتری‌ها، متانومیکروب‌ها و متانوباکتری‌ها کاهش یافت. در ایران تاکنون مطالعه‌ای روی بررسی ارزش غذایی برگ *پالونیای* اصلاح شده برای استفاده در تغذیه دام صورت نگرفته است. لذا، هدف از تحقیق حاضر، بررسی ترکیب شیمیایی برگ *پالونیا* و سپس بررسی ارزش غذایی، فراسنجه‌های تولید گاز، خصوصیات هضم و تخمیر سیلاژ حاصل از مخلوط سطوح مختلف برگ *پالونیای* اصلاح شده رقم "طب جو" با ذرت علوفه‌ای در شرایط برون‌تنی بود.

مواد و روش‌ها

تهیه ذرت علوفه‌ای و برگ پالونیا و آماده‌سازی سیلاژهای آزمایشی

ذرت علوفه‌ای از مزارع تحت کشت در اطراف شهرستان خرم‌آباد تهیه شد. برگ *پالونیای* اصلاح شده رقم هیبرید طب جو (شرکت طب جویان، شیراز، استان فارس) از یک مزرعه پرورش *پالونیای* ۳-۲ ساله در اطراف شهر خرم‌آباد جمع‌آوری گردید. برگ‌ها به‌صورت دستی از ۱۵ درخت به‌طور تصادفی برداشت و مخلوط شد. در ابتدا، بر اساس روش‌های مرسوم اقدام به تعیین ترکیب شیمیایی نمونه‌های ذرت علوفه‌ای و برگ *پالونیای* تازه شد (پنج تکرار به‌ازای هر علوفه). قبل از سیلو کردن هر دو علوفه به‌وسیله دستگاه چاپر دستی آشپزخانه در اندازه‌های ۴-۲ سانتی‌متری خرد شد و از هر علوفه به‌مقدار مورد نیاز برای تهیه مخلوط سیلاژهای آزمایشی نمونه‌برداری شد. سپس عملیات سیلو کردن مخلوطی از این دو علوفه به نسبت‌های مختلف

1- Neutral Detergent Fiber
2- Acid Detergent Fiber
3- Non Fiber Carbohydrates

صورت گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل سیلاژهای حاوی ذرت علوفه‌ای و برگ *پالونیا* به‌ترتیب با نسبت‌های ۰:۱۰۰، ۷۵:۲۵، ۵۰:۵۰، ۲۵:۷۵ و ۱۰۰:۰ بر اساس درصد ماده خشک بود. نحوه تهیه سیلاژهای آزمایشی به این صورت بود که هر سیلاژ در هشت تکرار (در کل ۴۰ ظرف پلاستیکی) در ظرف‌های پلاستیکی با ظرفیت ۱۰ کیلوگرم قرار داده شد و پس از فشردن و خارج نمودن هوا توسط جارو برقی، از بی‌هوازی بودن آن‌ها حصول اطمینان شد. سپس، درب ظرف‌ها بسته شده و به‌مدت ۶۰ روز عملیات سیلو کردن نمونه‌ها انجام شد. ظرف‌های حاوی مواد سیلویی حاوی روزنه‌ای جهت خروج شیرابه بودند. پس از طی این مدت، درب ظرف‌ها باز شده و خصوصیاتی از قبیل محتوای ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، عصاره اتری، NDF، ADF، کربوهیدرات‌های محلول در آب (WSC)[1]، NFC و غلظت نیتروژن آمونیاکی سیلاژها بر اساس روش‌های استاندارد تعیین شد. میزان pH سیلاژها نیز بلافاصله اندازه‌گیری شد. برای تعیین pH سیلاژ، ۵۰ گرم نمونه تازه در یک بشر ۵۰۰ میلی‌لیتری توزین گردید و ۱۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. نمونه‌ها طی یک ساعت به‌طور متناوب به هم زده شدند. سپس، عصاره حاصل به بشر کوچک‌تری منتقل گردید و pH با استفاده از pHمتر (مدل 744؛ شرکت Metrohm سوئیس) تعیین شد (Faithfull, 2000).

تجزیه شیمیایی نمونه‌ها

پیش از تجزیه شیمیایی، ابتدا نمونه‌های علوفه و سیلاژ حاصل از آن‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آون برای رسیدن به وزن ثابت، خشک شد و سپس با استفاده از آسیاب مجهز به الک با قطر منافذ یک میلی‌متری آسیاب شدند. میزان ماده خشک، خاکستر خام، ماده آلی، پروتئین خام و عصاره اتری در نمونه‌های علوفه تازه و سیلاژ بر اساس روش‌های انجمن شیمیدانان رسمی (AOAC, 2002) تعیین گردید. میزان ADF و لیگنین توسط روش ون‌سوست و همکاران (VanSoest *et al.*, 1991) محاسبه گردید. برای تعیین میزان NDF نمونه‌ها از روش مرتنز (Mertens, 2002) استفاده شد. برای تعیین میزان NDF و ADF نمونه‌ها از دستگاه فایبرتک (Fibertec System M, Tecator, 1020 Hot Extraction, Flawil, Switzerland) و بدون استفاده از سدیم سولفیت و آنزیم آلفا امیلاز مقاوم به حرارت استفاده شد. محتوای WSC نمونه‌ها توسط روش آنترون تعیین شد (MAFF, 1982). در این روش، عصاره کربوهیدراتی استخراج شده از نمونه‌های گیاهی، در مجاورت معرف آنترون (مخلوط اسید سولفوریک، تیوره و آنترون)، در حمام آب جوش حرارت داده شد تا کمپلکسی به رنگ آبی- سبز ایجاد گردد. سپس، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتری مدل ۳۴۰ (HITACHI) خوانده شد. محتوای NFC نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر تخمین زده شد (McDonald *et al.*, 2011):

NFC (%) = 100 – [NDF %) + CP (%) + EE (%) + Ash (%)]

که در آن، NFC: درصد کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی، NDF: درصد الیاف نامحلول در شوینده خنثی، CP: درصد پروتئین خام، EE: درصد عصاره اتری و Ash: درصد خاکستر خام است. میزان نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها با استفاده از معرف‌های فنول و هیپوکلریت اندازه‌گیری شد (Broderick and Kang, 1980).

آزمون تولید گاز برون‌تنی

به‌منظور انجام آزمون تولید گاز برون‌تنی، مایع شکمبه از سه رأس گوسفند نژاد لری- بختیاری بالغ که حداقل به‌مدت دو هفته با جیره غذایی حاوی ۶۰ درصد علوفه و ۴۰ درصد کنسانتره تغذیه شدند، قبل از تغذیه صبحگاهی از طریق لوله مری تهیه شد. جیره آزمایشی دام‌ها حاوی ۳۰ درصد کاه گندم، ۱پنج درصد سیلاژ ذرت، ۱پنج درصد یونجه خشک، ۱۸/۵ درصد بلغور ذرت، ۲۰ درصد سبوس گندم، ۰/۵ درصد اوره، ۰/۵ درصد کربنات کلسیم، ۰/۲۵ درصد مواد معدنی و ویتامینه و ۰/۲۵ درصد نمک بر حسب ماده خشک بود که بر اساس جداول احتیاجات تغذیه‌ای نشخوارکنندگان کوچک متوازن شده بود (NRC, 2007). گوسفندان روزانه دو بار و در حد احتیاجات نگهداری تغذیه شدند. محتوای پروتئین خام و انرژی قابل متابولیسم جیره تغذیه شده به گوسفندان به‌ترتیب ۱۱/۸ درصد و ۲/۳۳ مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک بود.

محتویات شکمبه هر سه رأس گوسفند در هر مرحله در یک فلاسک عایق که از قبل توسط گاز دی اکسید کربن بی‌هوازی شده بود، در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد کاملاً مخلوط گردید و سریعاً (در کمتر از ۲۰ دقیقه) به آزمایشگاه منتقل شد. قبل از تزریق به داخل ویال‌های آزمایشی، محتویات شکمبه توسط چهار لایه پارچه متقال صاف شد. دو آزمون تولید گاز به‌طور همزمان و در سه سری (Run) مجزا انجام شد. در آزمون اول، ابتدا میزان ۲۵۰ میلی‌گرم نمونه سیلاژ کاملاً خشک آسیاب شده و با اندازه ذرات یک میلی‌متر به داخل هر ویال برای تعیین پارامترهای آزمون تولید گاز قرار داده شد (پنج تکرار به‌ازای هر تیمار در هر سری؛ ۲۵ ویال آزمایشی در هر سری به‌علاوه سه ویال بلانک، جمعاً ۲۸ ویال در هر سری، و در کل ۸۴ ویال در هر سه سری برای آزمایش تولید گاز). سپس، هر ویال که از قبل دمای آن با قرار دادن در بن‌ماری به دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد رسیده بود، با پنج میلی‌لیتر مایع شکمبه صاف شده و ۲۵ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی

1- Water Soluble Carbohydrates

تلقیح گردید (Marten and Barnes, 1980). جهت حصول اطمینان از ایجاد شرایط بی‌هوازی، گاز دی اکسید کربن به شیرابه شکمبه صاف شده و بزاق مصنوعی قبل و پس از تزریق به داخل ویال‌ها نیز تزریق گردید. میزان سه ویال نیز به‌عنوان بلانک (حاوی فقط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی) در نظر گرفته شد. سپس درب ویال‌ها بسته شده و در بن‌ماری با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. میزان گاز تولیدی هر ویال توسط دستگاه فشارسنج دیجیتال در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت پس از انکوباسیون اندازه‌گیری شد. برای تعیین پارامترهای تولید گاز از معادله ۱ استفاده گردید (Blümmel *et al.*, 2003).

$$P = b(1 - e^{-ct})$$ معادله (۱)

که در آن، b: گاز تولیدی از بخش تخمیرپذیر (میلی‌لیتر)، c: سرعت تولید گاز در ساعت، t: زمان انکوباسیون بر حسب ساعت و P: میزان گاز تولیدی (میلی‌لیتر) در زمان مورد نظر می‌باشد.

آزمون دوم تولید گاز با هشت تکرار به‌ازای هر تیمار و سه سری (هشت تکرار به‌ازای هر تیمار در هر سری؛ ۴۰ ویال آزمایشی در هر سری به‌علاوه سه ویال بلانک، جمعاً، ۴۳ ویال در هر سری، و در کل، ۱۲۹ ویال در هر سه سری برای فراسنجه‌های هضم و تخمیر برون‌تنی). به‌منظور تعیین گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک، قابلیت هضم ماده آلی و تخمین انرژی قابل متابولیسم جیره‌های آزمایشی و نیز فراسنجه‌های تخمیر شامل pH، نیتروژن آمونیاکی، سنتز پروتئین میکروبی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و فعالیت آنزیمی شکمبه طراحی شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (Vercoe *et al.*, 2010)، ابتدا میزان گاز تولیدی هر ویال ثبت گردید، سپس pH به‌وسیله pHمتر (مدل 744؛ شرکت Metrohm سوئیس) قرائت شد. محتوای هر ویال با دور ۲۰۰۰g به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. بقایای هر ویال جمع‌آوری و خشک شده و میزان گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک از اختلاف وزن سوبسترای اولیه و وزن بقایا پس از انکوباسیون محاسبه گردید. جهت تعیین میزان نیتروژن آمونیاکی، نمونه‌های سوپرناتانت (۵ میلی‌لیتر) سریعاً با یک میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. میزان گوارش‌پذیری ماده آلی و انرژی قابل متابولیسم سیلاژهای آزمایشی به‌ترتیب بر اساس معادله‌های ۲ و ۳ تخمین زده شد (Menke and Steingass, 1988):

$$IVOMD\ (g/kg\ OM) = 148.8 + 8.89\ GAS + 4.50\ CP + 6.51\ XA$$ معادله ۲

$$ME\ (MJ/kg\ DM) = 2.2 + 0.136GP + 0.0157CP + 0.00002859CP^2$$ معادله ۳

که در این معادله‌ها، IVOMD: میزان گوارش‌پذیری ماده آلی، GAS: میزان گاز خالص تولیدی برای ۲۰۰ میلی‌گرم سوبسترا پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون (Menke and Steingass, 1988)، CP: میزان پروتئین خام به‌صورت گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک، XA: خاکستر به‌صورت گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک و ME: انرژی قابل متابولیسم می‌باشد.

تولید پروتئین میکروبی (MPS)[1] به‌صورت معادله ۴ محاسبه گردید (Blümmel *et al.*, 1997):

$$MPS\ (mg/g\ DM) = mg\ ADS - (ml\ gas \times 2.2\ mg/ml)$$ معادله ۴

که در آن، ADS: سوبسترای هضم شده ظاهری پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ml gas: حجم گاز تولیدی پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته و ۲/۲: عامل استوکیومتری بر حسب میلی‌گرم کربن، هیدروژن و اکسیژن مورد نیاز برای سنتز اسیدهای چرب کوتاه زنجیر است.

غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنجیر با استفاده از معادله ۵ محاسبه شد (Getachew *et al.*, 2002):

$$SCFA\ (mmol/200\ mg\ DM) = 0.0222GP - 0.0042$$ معادله ۵

که در آن، SCFA: اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر تولیدی و GP: حجم گاز تولیدی در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون می‌باشد.

تعیین فعالیت آنزیم‌های هیدرولتیک میکروبی شکمبه

فعالیت آنزیم‌های میکروبی شکمبه شامل کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز، فعالیت تجزیه کاغذ صافی، آلفا آمیلاز و پروتئاز موجود در بخش میکروب‌های چسبیده به ذرات خوراکی (پلت‌های جمع‌آوری شده) بر اساس روش آگاروال (Agarwal, 2000) تخمین زده شد. روش کار به این صورت بود که پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ابتدا محتوای هر ویال (چهار ویال به‌ازای هر تیمار) به‌مدت ۲۰ دقیقه و با دور ۵۰۰۰×g سانتریفیوژ گردیده و بقایا جمع‌آوری گردید. سپس بقایا با تتراکلرید کربن و آنزیم لیزوزیم فرآیند شده و مخلوط آنزیم‌های مایع شکمبه در بافر فسفات در سانتریفیوژ با دور ۲۷۰۰۰×g در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه به‌دست آمد. برای تخمین فعالیت کربوکسی متیل سلولاز، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۰/۵ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه صاف شده و ۰/۵ میلی‌لیتر کربوکسی متیل سلولز یک درصد (به‌عنوان سوبسترا) بوده که در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت انکوبه گردید. مخلوط واکنش برای آنزیم میکروکریستالین سلولاز که شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، یک میلی‌لیتر شیرابه

1- Microbial Protein Synthesis

شکمبه صاف شده و یک میلی‌لیتر میکروکریستالین سلولز یک درصد (به‌عنوان سوبسترا) بوده که در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت مورد انکوباسیون قرار گرفت. به‌منظور محاسبه فعالیت کاغذ صافی، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، یک میلی‌لیتر شیرابه شکمبه صاف شده و ۰/۵ گرم کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (به‌عنوان سوبسترا)، در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت انکوبه گردید. در همه آزمون‌های مذکور، واکنش با افزودن سه میلی‌لیتر محلول دی‌نیتروسالیسیلیک اسید متوقف شد. گلوکز آزاد شده در اثر فعالیت هر یک از آنزیم‌های مورد آزمون بر اساس روش میلر (Miller, 1959) تخمین زده شد. فعالیت‌های آنزیمی بر اساس این فرض که یک واحد آنزیمی، توانایی تولید یک میکرومول گلوکز در هر ساعت در هر میلی‌لیتر را تحت شرایط مخلوط واکنش دارد، محاسبه گردید. برای تعیین فعالیت پروتئازی شکمبه، مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (با pH برابر با ۶/۸)، ۰/۲۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه صاف شده و ۰/۲۵ میلی‌لیتر کازئین (۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بود که در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت دو ساعت انکوبه گردید. سپس، مخلوط واکنش با افزودن تری‌کلرو استیک اسید (۲۰۰ میلی‌لیتر در لیتر) متوقف شده و پروتئین بر اساس روش مربوطه تعیین شد (Lowry *et al.*, 1951).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ترکیب شیمیایی ذرت علوفه‌ای و برگ *پالونیای* تازه و سیلاژهای آزمایشی حاصل از آن‌ها با استفاده از رویه GLM و توسط نرم‌افزار آماری (SAS, 2005) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. مدل آماری طرح آزمایشی به‌صورت مدل زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

که در آن، Y_{ij}، μ، T_i و e_{ij}: به‌ترتیب رکورد مشاهده شده، میانگین کل، اثر ثابت تیمار آزمایشی iام و اثر خطای آزمایشی است. میانگین‌های به‌دست آمده با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح معنی‌داری پنج درصد با هم مقایسه شدند.

تجزیه واریانس سایر داده‌ها شامل تولید گاز، گوارش‌پذیری مواد مغذی، فراسنجه‌های تخمیر و فعالیت آنزیمی سیلاژهای آزمایشی با استفاده از رویه MIXED و توسط نرم‌افزار آماری (SAS, 2005) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. مدل آماری طرح آزمایشی به‌صورت مدل زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + Run_j + e_{ijk}$$

که در آن، Y_{ijk}، μ، T_i، Run_j و e_{ijk}: به‌ترتیب رکورد مشاهده شده، میانگین کل، اثر ثابت تیمار آزمایشی iام، اثر تصادفی دوره jام و اثر خطای آزمایشی است. میانگین‌های صفات به‌دست آمده با استفاده از مقایسات متعامد (خطی و غیر خطی) و در سطح معنی‌داری پنج درصد با هم مقایسه شدند.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی برگ *پالونیا*، ذرت علوفه‌ای و سیلاژهای حاصل از آن‌ها

در جدول ۱، نتایج مربوط به ترکیب شیمیایی ذرت علوفه‌ای و برگ *پالونیای* تازه ارائه شده است. محتوای ماده خشک، پروتئین خام و لیگنین در برگ *پالونیا* به‌طور معنی‌داری بیشتر از ذرت علوفه‌ای بود (P<۰/۰۵). این در حالی است که محتوای ماده آلی، NDF و ADF ذرت علوفه‌ای به‌طور معنی‌داری بیشتر از برگ *پالونیا* به‌دست آمد (P<۰/۰۵). میزان عصاره اتری، NFC و WSC دو علوفه مشابه بود (P>۰/۰۵). در جدول ۲، نتایج مربوط به ترکیب شیمیایی سیلاژهای مخلوط حاوی نسبت‌های مختلف برگ *پالونیا* و ذرت علوفه‌ای ارائه شده است. با افزایش سطح برگ *پالونیا* در سیلاژ، درصد ماده خشک، پروتئین خام، لیگنین، عصاره اتری، و غلظت نیتروژن آمونیاکی به‌طور خطی افزایش یافت (P<۰/۰۵). به هر حال، درصد ماده آلی، NDF و ADF با افزایش نسبت برگ *پالونیا* به‌طور خطی کاهش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). محتوای NFC، WSC و pH سیلاژهای آزمایشی تحت تأثیر نسبت برگ *پالونیا* و ذرت علوفه‌ای قرار نگرفت (P>۰/۰۵). باید عنوان نمود که به‌جز محتوای ماده خشک که در سیلاژ برگ *پالونیا* و سیلاژ ذرت علوفه‌ای اندکی بیشتر از علوفه تازه آن‌ها بود (جداول ۱ و ۲)، میزان سایر ترکیبات شیمیایی در هر سیلاژ کمتر از میزان آن در علوفه تازه بود. افزایش میزان ماده خشک در سیلاژها احتمالاً به‌دلیل خروج بخشی از رطوبت آن‌ها به‌صورت شیرابه سیلویی باشد. میزان پروتئین خام در علوفه و سیلاژ برگ *پالونیا* به‌طور قابل توجهی بیشتر از ذرت علوفه‌ای بود (جداول ۱ و ۲) که این می‌تواند پتانسیل و مزیت برگ *پالونیا* به‌عنوان یک منبع علوفه‌ای جدید، به‌خصوص در شرایطی که پروتئین به‌عنوان یک عامل محدودکننده در جیره نشخوارکنندگان مطرح باشد، را نشان دهد. همچنین، برخلاف ذرت علوفه‌ای، غلظت پروتئین خام در برگ تازه و سیلو شده *پالونیا* (به‌ترتیب ۱۷۳ و ۱۶۴ گرم در کیلوگرم ماده خشک) بیشتر از حداقل پروتئین خام مورد نیاز (هشت درصد ماده خشک) برای تولید آمونیاک کافی در شکمبه به‌منظور دستیابی به حداکثر رشد میکروبی بود (Norton, 1998)، این می‌تواند یکی دیگر از مزیت‌های استفاده از برگ یا سیلاژ *پالونیا* در تغذیه دام باشد. با سیلو کردن، غلظت پروتئین خام هر دو سیلاژ آزمایشی در مقایسه با علوفه تازه آن‌ها اندکی کاهش یافت که این احتمالاً به‌دلیل تجزیه بخشی از پروتئین خام در اثر فعالیت میکروب‌ها و تولید آمونیاک می‌باشد (McDonald *et al.*, 2011).

جدول ۱– ترکیب شیمیایی ذرت علوفه‌ای و برگ *پالونیای* تازه (گرم در کیلوگرم ماده خشک یا واحد بیان شده)

Table 1- Chemical composition of fresh forage corn and *Paulownia* leaf (g/kg DM or as statsed)

پارامتر Parameter	نوع علوفه Forage type ذرت Corn	 برگ *پالونیا* *Paulownia* leaf	خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	احتمال معنی‌داری P-value
ماده خشک Dry matter	234[b]	266[a]	4.82	<0.01
ماده آلی Organic matter	936[a]	911[b]	5.27	0.02
پروتئین خام Crude protein	81.4[b]	173[a]	7.27	<0.01
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	502[a]	402[b]	6.74	<0.01
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	325[a]	201[b]	7.08	<0.01
لیگنین Lignin	63.4[b]	86.4[a]	2.85	<0.01
عصاره اتری Ether extract	33.5	35.5	1.64	0.41
کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی Non-fiber carbohydrates	319	301	6.65	0.11
کربوهیدرات‌های محلول در آب Water soluble carbohydrates	101	91.2	3.65	0.11

حروف غیر مشترک در هر ردیف تفاوت معنی‌دار را بین تیمارها نشان می‌دهد (P< ۰/۰۵).

Different letters in each row indicate significant difference between groups (P<0.05).

مطابق با این نتایج، در مطالعه‌ای محتوای پروتئین خام برگ تازه گونه *پالونیا* الونگاتا ۱۷۲ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شد (Stewart *et al.*, 2018). در پژوهش دیگری، محتوای پروتئین خام برگ خشک *پالونیا* ۱۷۴ گرم در کیلوگرم ماده خشک بود (Al-Sagheer *et al.*, 2019). در کل، محتوای پروتئین خام برگ *پالونیا* در دامنه ۱۱۳ تا ۲۷۱ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شده است (Descals *et al.*, 2013). وجود اختلافات در نتایج محققان، ممکن است به‌دلیل عواملی مانند رقم گیاه، زمان کاشت و برداشت، شرایط جغرافیایی محل کشت، نوع و میزان کاربرد کودهای شیمیایی و مدیریت تهیه سیلاژ باشد (Kaiser *et al.*, 2004). محتوای NDF و ADF در برگ تازه و سیلاژ *پالونیا* به‌طور قابل توجهی کمتر از ذرت علوفه‌ای بود که نشان‌دهنده پتانسیل مطلوب *پالونیا* به‌عنوان یک منبع علوفه‌ای است، زیرا مشخص شده است که مقدار NDF گیاه با مصرف خوراک رابطه معکوس دارد (McDonald *et al.*, 2011). لذا، عدم اثر منفی فیبر برگ *پالونیا* بر مصرف خوراک در نشخوارکنندگان قابل انتظار است.

محتوای NDF سیلاژ برگ *پالونیا* در مطالعه حاضر بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط هوانگ و همکاران (Huang *et al.*, 2022) بود (۳۵۹ گرم در کیلوگرم ماده خشک)، امّا مشابه با مقدار گزارش شده (۴۴۷ گرم در کیلوگرم ماده خشک) توسط استوارت و همکاران (Stewart *et al.*, 2018) بود. در پژوهش دیگری (Al-Sagheer *et al.*, 2019) میزان NDF برگ *پالونیا* ۴۰۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش شد که کمتر از نتایج ارائه شده در تحقیق حاضر است. کاهش محتوای فیبری سیلاژها در مقایسه با علوفه تازه مطابق با نتایج سایر محققان است (Rezaei *et al.*, 2009) و دلیل آن را می‌توان به تجزیه سلولز و همی‌سلولز در اثر فعالیت میکروب‌ها حین تخمیر و نیز هیدرولیز آن‌ها در pH اسیدی سیلاژ نسبت داد (Rezaei *et al.*, 2009). محتوای لیگنین در برگ تازه و سیلاژ *پالونیا* بیشتر از ذرت علوفه‌ای بود که این ممکن است بر ارزش غذایی آن اثر منفی داشته باشد و لذا، در زمان استفاده از برگ یا سیلاژ *پالونیا* در جیره نشخوارکنندگان باید به غلظت کل جیره کامل مخلوط توجه نمود. همچنین، با افزایش نسبت برگ *پالونیا* در جیره، غلظت لیگنین به‌تدریج افزایش معنی‌داری یافت، هر چند اختلاف خیلی زیاد نبود.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی (گرم در کیلوگرم ماده خشک یا واحد ذکر شده) سیلاژهای حاوی نسبت‌های مختلف ذرت علوفه‌ای و برگ *پالونیا*

Table 2- Chemical composition (g/kg DM or as stated) of silages containing different proportion of forage corn (FC) and *Paulownia* leaf (PL)

صفت Parameter	نسبت های ذرت و پالونیا در سیلاژ(٪) Proportions of corn and *Paulownia* in the silage (% of DM)					خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	Contrast	
	فقط ذرت (Corn only FC) 100:0	75:25	50:50	25:75	فقط پالونیا (Paulownia only PL) 0:100		خطی Linear	غیر خطی Quadratic
ماده خشک Dry matter	242[c]	252[bc]	260[ab]	267[a]	273[a]	4.30	<0.01	0.65
ماده آلی Organic matter	927[a]	920[ab]	915[bc]	907[bc]	902[c]	4.97	<0.01	0.97
پروتئین خام Crude protein	80.5[e]	102[d]	122[c]	144[b]	164[a]	3.56	<0.01	0.93
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber	487[a]	465[b]	438[c]	415[d]	393[e]	4.24	<0.01	0.78
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber	310[a]	278[b]	253[c]	223[d]	191[e]	3.94	<0.01	0.74
لیگنین Lignin	60.1[c]	63.9[bc]	66.3[bc]	70.3[ab]	74.5[a]	2.38	<0.01	0.77
عصاره اتری Ether extract	33.4[b]	35.1[ab]	35.9[ab]	37.2[ab]	38.8[a]	1.57	0.03	0.91
کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی Non-fiber carbohydrates	326	318	319	311	306	7.28	0.10	0.75
کربوهیدرات‌های محلول در آب Water soluble carbohydrates	22.9	23.5	24.4	25.3	25.4	1.19	0.11	0.81
pH	3.96	3.99	4.11	4.26	4.29	0.157	0.15	0.89
نیتروژن آمونیاکی Ammonia-N (g/kg total N)	51.3[b]	54.2[ab]	54.8[ab]	57.3[ab]	59.1[a]	1.59	0.02	0.46

حروف غیر مشترک در هر ردیف تفاوت معنی‌دار را بین تیمارها نشان می‌دهد (P< ۰/۰۵).

Different letters in each row indicate significant difference between groups (P<0.05).

تفاوت غلظت WSC در علوفه تـازه هـر دو گیـاه از نظـر آمـاری معنی‌دار نبود (۱۰۱ و ۹۱/۲ گرم در کیلوگرم مـاده خشـک). بـه نظـر می‌رسد که غلظت WSC در هر دو علوفه بـرای ایجـاد یـک تخمیـر پایدار و مطلوب حین سیلو کردن کافی بوده است، زیرا مشخص شـده است که حداقل میزان WSC در علوفه که بتوان آن را سیلو نمود باید حدود ۳۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک باشـد (Haigh and Parker, 1985). پس از سیلو کردن، میزان WSC به‌طور معنـی‌داری کـاهش یافت که این قابل انتظار بود، زیرا قندهای محلول علوفه طـی فراینـد تخمیر بی‌هوازی توسط میکروارگانیسم‌ها به‌خصوص باکتری‌های مولد اسید لاکتیک مصرف شده و تولید لاکتات جهت کاهش pH سیلاژ و پایدرای آن خواهنـد کـرد (Nkosi and Mekuria, 2010). افـزایش سهم برگ *پالونیا* در سـیلاژهای مخلـوط تـأثیری بـر غلظـت WSC نداشت. محتوای خاکستر خام برگ تـازه (۸۹ گـرم در کیلـوگرم مـاده خشک) و سیلاژ *پالونیا* (۹۸ گرم در کیلـوگرم مـاده خشـک) بیشـتر از علوفه تازه و سیلاژ ذرت بود. بالا بـودن غلظـت خاکسـتر خـام بـرگ *پالونیا* در مطالعه دیگری (به‌ترتیب ۱۱۴ و ۱۲۵ گرم در کیلوگرم مـاده خشک در بـرگ خشـک و سـیلاژ *پالونیا*) نیـز گـزارش شـده اسـت (Huang *et al.*, 2022).

افزایش محتوای ماده خشک، پروتئین خام، لیگنین و عصاره اتری با افزایش سهم برگ *پالونیا* نسـبت بـه ذرت در سـیلاژهای مخلـوط، احتمالاً به‌دلیل غلظت بیشتر ترکیبات مذکور در برگ *پالونیا* بوده است. کاهش محتوای فیبری سیلاژ با افزایش نسبت بـرگ *پالونیا* احتمـالاً

به‌دلیل محتوای NDF و ADF کمتر برگ *پالونیا* باشد. میزان pH سیلاژهای آزمایشی در دامنه مناسب ۴/۲–۳/۸ برای یک تخمیر مطلوب قرار داشت (Faithfull, 2000) و تحت تأثیر نسبت ذرت و برگ *پالونیا* قرار نگرفت، هر چند انتظار این بود که سیلاژهای حاوی برگ *پالونیا* به‌دلیل افزایش میزان پروتئین خام، در برابر افت pH سیلو، مقاومت از خود نشان دهند. با افزایش نسبت برگ *پالونیا* به ذرت علوفه‌ای، غلظت نیتروژن آمونیاکی سیلاژ افزایش یافت که این احتمالاً به‌خاطر محتوای پروتئین خام برگ *پالونیا* بوده که حین عمل تخمیر تبدیل به آمونیاک شده است.

تولید گاز، فراسنجه‌های تخمیر و گوارش‌پذیری برون‌تنی

همان‌طوری که در جدول ۳ نشان داده شده است، با افزایش نسبت برگ *پالونیا* به ذرت علوفه‌ای در سیلاژ، تولید گاز در زمان‌های ۲۴، ۳۶ و ۴۸ و نیز پتانسیل تولید گاز (ضریب b) به‌طور خطی کاهش یافت (P<۰/۰۵). هر چند، حجم گاز تولیدی در زمان‌های ۱۶، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعته (کل گاز تولیدی) و نرخ تولید گاز (ضریب c) تحت تأثیر قرار نگرفت (P>۰/۰۵). تفاوت در میزان گاز تولیدی در زمان‌های انکوباسیون مربوطه احتمالاً به‌دلیل اختلاف در غلظت پروتئین خام، NDF و لیگنین سیلاژهای آزمایشی بوده است، زیرا یک رابطه معکوس بین ترکیباتی مانند پروتئین خام، NDF و مخصوصاً لیگنین با تولید گاز وجود دارد (VanSoest, 1994). دلیل دیگر کاهش تولید گاز با افزایش نسبت برگ *پالونیا* در سیلاژ را می‌توان با کمتر بودن میزان ماده آلی توجیه کرد.

نتایج مربوط فراسنجه‌های تخمیر و گوارش‌پذیری در جدول ۴ ارائه شده است. با افزایش نسبت برگ *پالونیا* به ذرت علوفه‌ای در سیلاژ غلظت نیتروژن آمونیاکی و سنتز پروتئین میکروبی به‌طور خطی افزایش نشان داد (P<۰/۰۵)، هر چند، غلظت اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر به‌طور خطی کاهش یافت. میزان pH، انرژی قابل متابولیسم و گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک تحت تأثیر سیلاژهای آزمایشی قرار نگرفت. امّا با افزایش سهم برگ *پالونیا* در سیلاژ، گوارش‌پذیری ماده آلی تمایل به کاهش خطی پیدا کرد (P=۰/۰۸).

جدول ۳– فراسنجه‌های تولید گاز آزمایشگاهی (میلی‌لیتر به‌ازای ۲۵۰ میلی‌گرم سوبسترا یا واحد ذکر شده) سیلاژهای حاوی نسبت‌های مختلف ذرت علوفه‌ای و برگ *پالونیا*

Table 3- *In vitro* gas production parameters (ml/250 mg substrate or as stated) of silages containing different proportion of forage corn (FC) and *Paulownia* leaf (PL)

صفت Parameter	نسبت های ذرت و پالونیا در سیلاژ(٪) Proportions of corn and *Paulownia* in the silage (% of DM)					خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	Contrast	
	Control (only FC)	75:25	50:50	25:75	100 (only PL)		خطی Linear	غیر خطی Quadratic
تولید گاز ۱۶ ساعته Gas production at 16 h	31.2	32.3	32.6	34.2	34.5	2.05	0.21	0.95
تولید گاز ۲۴ ساعته Gas production at 24 h	52.3[a]	48.1[ab]	45.8[b]	43.4[bc]	40.5[c]	1.60	<0.01	0.68
تولید گاز ۳۶ ساعته Gas production at 36 h	59.8[a]	57.5[ab]	56.3[ab]	52.6[bc]	49.5[c]	1.98	<0.01	0.58
تولید گاز ۴۸ ساعته Gas production at 48 h	64.2[a]	63.1[ab]	61.1[ab]	58.1[ab]	55.8[b]	2.70	0.02	0.83
تولید گاز ۷۲ ساعته Gas production at 72 h	64.9	63.8	61.6	60.8	58.8	2.21	0.09	0.87
تولید گاز ۹۶ ساعته Gas production at 96 h	65.1	64.5	62.3	62.2	60.3	2.50	0.16	0.76
کل گاز تولیدی ۱۲۰ ساعته Total gas production (120 h)	66.7	65.5	63.3	61.1	60.9	2.58	0.18	0.87
پتانسیل تولید گاز (b) Gas production potential	72.1[a]	68.3[a]b	67.5[ab]	65.8[ab]	63.5[b]	2.11	0.02	0.87
نرخ تولید گاز (c) Rate of gas production (c; %/h)	0.033	0.032	0.031	0.030	0.030	0.002	0.22	0.55

حروف غیر مشترک در هر ردیف تفاوت معنی‌دار را بین تیمارها نشان می‌دهد (P< ۰/۰۵).

Different letters in each row indicate significant difference between groups (P<0.05).

دلیل کاهش تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر احتمالاً محتوای NDF کمتر و لیگنین بیشتر برگ *پالونیا* بوده است. یکی دیگر از دلایل این امر می‌تواند این باشد که احتمالاً تخمیر و مواد آلی بیشتر سبب تولید پروتئین میکروبی شده‌اند، زیرا برگ پالونیا دارای محتوای قابل ملاحظه‌ای ترکیبات فنولی (۶۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) بوده (Huang *et al.*, 2022) که در مطالعاتی نشان داده شده است که ترکیبات مذکور با تعدیل کردن تجزیه پروتئین در شکمبه سبب تولید بهینه پروتئین میکروبی می‌شوند (Makkar *et al.*, 1995). دلیل اینکه گوارش‌پذیری ماده خشک برخلاف گوارش‌پذیری ماده آلی که با افزایش کاربرد برگ *پالونیا* به‌جای ذرت علوفه‌ای تمایل به کاهش نشان داد، تفاوتی بین سیلاژها نداشت، احتمالاً به‌خاطر میزان خاکستر بالاتر برگ *پالونیا* بوده که معمولاً گوارش‌پذیری بالایی دارد و از این طریق، از افت بیش از حد گوارش‌پذیری ماده خشک جلوگیری نموده است. با انکوباسیون همه سیلاژهای آزمایشی، غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون بیشتر از حداقل مقدار مورد نیاز آن (پنج میلی‌گرم در دسی‌لیتر) جهت رشد بهینه میکروبی بود (Satter and Slytor, 1974). دلیل افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی با افزایش نسبت برگ *پالونیا* به ذرت علوفه‌ای در سیلاژ، احتمالاً به‌دلیل غلظت پروتئین خام بیشتر برگ *پالونیا* بوده است و در حقیقت، پروتئین بیشتری در فرایند تجزیه و آمین‌زدایی وارد شده است. افزایش پروتئولیز شکمبه (جدول ۵) نیز می‌تواند توجیه‌کننده این نتایج باشد. ویژگی‌های پروتئین دو نمونه علفی و مقاومت آن‌ها در برابر پروتئولیز هم ممکن است در این زمینه اثر داشته باشد. برگ *پالونیا* دارای مقادیر قابل توجهی ترکیبات فنولی است که ممکن است با کند کردن روند تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه، از طریق تبدیل آمونیاک به پروتئین میکروبی سبب کاهش غلظت آن در مایع شکمبه شود، امّا در مطالعه حاضر به‌دلیل زیاد بودن محتوای پروتئین خام با افزایش نسبت برگ *پالونیا* در سیلاژ، احتمالاً تجزیه زیاد پروتئین توسط ریزجانداران پروتئولتیک شکمبه مانع از دیده شدن اثرات مثبت ترکیبات فنولی شده است. انرژی قابل متابولیسم سیلاژهای آزمایشی تحت تأثیر سطح *پالونیا* قرار نگرفت. انرژی قابل متابولیسم به‌دست آمده در این مطالعه کمتر از نتایج به‌دست آمده (۱۰/۸ مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) توسط قزلکام و همکاران (Özelçam *et al.*, 2012) بود.

جدول ٤- فراسنجه‌های تخمیر و گوارش‌پذیری آزمایشگاهی مواد مغذی سیلاژهای حاوی نسبت‌های مختلف ذرت علوفه‌ای و برگ *پالونیا*

Table 4- Fermentation parameters and *in vitro* nutrient digestibility of silages containing different proportion of forage corn (FC) and *Paulownia* leaf (PL)

صفت Parameter	نسبت های ذرت و پالنیا در سیلاژ(٪) Proportions of corn and *Paulownia* in the silage (% of DM)					خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	Contrast	
	Control (only FC)	75:25	50:50	25:75	100 (only PL)		خطی Linear	غیر خطی Quadratic
اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر (mmol/g DM) Short chain fatty acids	4.64^{a}	4.26^{ab}	4.05^{b}	3.83^{bc}	3.58^{c}	0.142	<0.01	0.68
گوارش‌پذیری ماده خشک (٪) Dry matter digestibility	58.4	59.4	59.8	60.8	61.4	1.87	0.24	0.97
گوارش‌پذیری ماده آلی (٪) Organic matter digestibility	60.4	58.9	58.4	58.2	57.4	1.14	0.08	0.70
انرژی قابل متابولیسم (MJ/kg DM) MJ/kg)Metabolisable energy (DM	8.52	8.30	8.21	8.32	8.31	0.171	0.41	0.56
pH	6.59	6.66	6.63	6.66	6.70	0.043	0.13	0.87
نیتروزن آمونیاکی (mg/dl) Ammonia-N	11.9^{c}	12.8^{c}	14.3^{b}	16.1^{a}	16.3^{a}	0.383	<0.01	0.55
پروتئین میکروبی (mg/g DM) Microbial protein	146^{e}	165^{d}	182^{c}	202^{b}	223^{a}	4.35	<0.01	0.71

حروف غیر مشترک در هر ردیف تفاوت معنی‌دار را بین تیمارها نشان می‌دهد (P< ۰/۰۵).

Different letters in each row indicate significant difference between groups (P<0.05).

جدول ۵- فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک شکمبه (واحد در ساعت در میلی‌لیتر یا واحد ذکر شده) سیلاژهای حاوی نسبت‌های مختلف ذرت علوفه‌ای و برگ *پالونیا*

Table 5- Rumen activity of hydrolytic enzymes (U/h/ml or as stated) of silages containing different proportion of forage corn (FC) and *Paulownia* leaf (PL)

صفت Parameter	نسبت های ذرت و پالونیا در سیلاژ(٪) Proportions of corn and *Paulownia* in the silage (% of DM)					خطای استاندارد میانگین‌ها SEM	Contrast	
	Control (only FC)	75:25	50:50	25:75	100 (only PL)		خطی Linear	غیر خطی Quadratic
کربوکسی متیل سلولاز Carboxymethyl cellulase	16.2[a]	14.8[ab]	14.6[ab]	15.3[ab]	13.8[b]	0.586	0.03	0.72
میکروکریستالین سلواز Microcrystalline cellulase	10.9[a]	10.4[ab]	10.4[ab]	10.3[ab]	10.6[b]	0.492	0.50	0.39
فعالیت تجزیه کاغذ صافی Filter paper degrading	28.9	25.9	24.9	24.1	22.8	1.49	<0.01	0.55
آلفا امیلاز α-amylase	31.1[b]	32.8[b]	33.3[b]	37.1[ab]	42.1[a]	2.54	0.01	0.61
پروتئاز (میکروگرم پروتئین هیدرولیز شده در ساعت) Protease	70.6[b]	73.9[ab]	76.6[ab]	79.4[ab]	84.1[a]	3.25	0.01	0.84

حروف غیر مشترک در هر ردیف تفاوت معنی‌دار را بین تیمارها نشان می‌دهد ($P< ۰/۰۵$).

Different letters in each row indicate significant difference between groups ($P<0.05$).

فعالیت آنزیمی شکمبه

در جدول ۵، نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک میکروبی محیط کشت با انکوباسیون سیلاژهای آزمایشی در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون گزارش شده است. فعالیت کربوکسی متیل سلولاز و فعالیت تجزیه کاغذ صافی با افزایش نسبت برگ *پالونیا* به ذرت علوفه‌ای در سیلاژ به‌طور خطی کاهش یافت ($P<۰/۰۵$)، هر چند، فعالیت آلفا آمیلاز و پروتئازی شکمبه افزایش خطی نشان داد ($P<۰/۰۵$). فعالیت میکروکریستالین سلولاز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P>۰/۰۵$). فعالیت کمپلکس‌های آنزیمی شکمبه به‌طور غیر مستقیم نشان‌دهنده جمعیت میکروب‌های دخیل در تخمیر و تجزیه مواد خوراکی است (Raghuvansi *et al.*, 2007).

با افزایش نسبت برگ *پالونیا* در سیلاژ، محتوای NDF و ADF سیلاژها به‌طور خطی کاهش یافت، که این کاهش سوبسترا می‌تواند دلیلی برای کاهش فعالیت برخی آنزیم‌های شاخص تجزیه‌کننده فیبر شامل کربوکسی متیل سلولاز و فعالیت تجزیه کاغذ صافی باشد. افزایش میزان لیگنین سیلاژهای حاوی *پالونیا* نیز ممکن است دلیل دیگری برای این منظور باشد، زیرا رابطه معکوسی بین سطح لیگنین و تخمیرپذیری و هضم علوفه‌ها گزارش شده است (VanSoest, 1994). نتایج مربوط به گوارش‌پذیری شکمبه‌ای ماده آلی (جدول ۴) تأییدکننده این نتایج است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز و پروتئاز محیط کشت با افزایش سطح برگ *پالونیا* در سیلاژ احتمالاً به‌دلیل فراهمی بیشتر سوبستراهای پروتئین خام بوده است (جدول ۲).

نتیجه‌گیری کلی

پژوهش حاضر نشان داد که برگ *پالونیا* رقم اصلاح شده طب جو دارای ارزش غذایی مطلوبی به‌عنوان یک منبع علوفه‌ای جدید در تغذیه دام است. همچنین، تهیه سیلاژهای آزمایشی با مخلوط کردن سطوح مختلف برگ *پالونیا* و ذرت علوفه‌ای امکان‌پذیر است و سبب افزایش محتوای پروتئین خام سیلاژ شده، که در شرایط کمبود منابع خوراکی پروتئینی، کاربرد آن در تغذیه دام قابل توصیه است. به هر حال، با توجه به افزایش سطح زیر کشت درخت *پالونیا* در کشور و نیز میزان برگ سبز تولیدی قابل توجه، طراحی دستگاهی جهت سهولت در برداشت برگ‌ها، امکان تولید سیلاژ در سطح تجاری را امکان‌پذیر می‌سازد. همچنین، انجام آزمایش‌های بیشتر به‌خصوص در دام زنده ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

از مدیریت محترم شرکت دانش‌بنیان اصلاح نژاد گوسفند و بز گهر درود به‌خاطر حمایت مالی و فراهم نمودن امکانات لازم جهت

انجام طرح تحقیقاتی حاضر نهایت تشکر و قدردانی را دارم. از همکار گرامی جناب آقای دکتر سعید حیدری، عضو هیأت علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه لرستان به‌سبب تأمین برگ *پالونیا* از مزرعه ایشان جهت انجام طرح تحقیقاتی حاضر کمال تشکر را دارم. از معاونت محترم پژوهشی و بخش ارتباط با صنعت دانشگاه لرستان به‌جهت هماهنگی‌ها و کمک شایان جهت انجام پژوهش حاضر، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Agarwal, N. (2000). Estimation of fiber degrading enzyme. In: L. C. Chaudhary, N. Agarwal, D. N. Kamra, and D. K. Agarwal, ed. Feed microbiology. *Izatnagar (India): CAS Animal Nutrition*, pp. 278–291.
2. Al-Sagheer, A. A., Abd El-Hack, M. A., Alagawany, M., Naiel, M. A., Mahgoub, S. A., Badr, M. M., Hussein, E. O. S., Alowaimer, A. N., & Swelum, A. A. (2019). *Paulownia* leaves as a new feed resource: Chemical composition and effects on growth, carcasses, digestibility, blood biochemistry, and intestinal bacterial populations of growing rabbits. *Animals*, 9, 95. https://doi.org/10.3390/ani9030095.
3. AOAC. (2002). Official Methods of Analysis of AOAC International (17th ed., 1th rev.). Gaithersburg (MD): Association of Official Analytical Chemists.
4. Blümmel, M., Karsli, A., & Russell J. R. (2003). Influence of diet on growth yields of rumen micro-organisms *in vitro* and *in vivo*: Influence on growth yield of variable carbon fluxes to fermentation products. *British Journal of Nutrition*, *90*, 625–634. https://doi.org/10.1079/bjn2003934.
5. Blümmel, M., Steingss, H., & Becker, K. (1997). The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and ^{15}N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *British Journal of Nutrition*, *77*, 911–921. https://doi.org/10.1079/BJN19970089
6. Bodnar, A., Pajor, F., Steier, J., Kispal, T., & Poti, P. (2014). Nutritive value of *Paulownia* (*Paulownia* spp.) hybrid tree leaves. *Hungarian Agricultural Research*, *23*, 27–32. https://doi.org/10.3390/ani9030095.
7. Broderick, G., & Kang, J. H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Dairy Science, 63*, 64-75. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82888-8.
8. Descals, P., Seradj, A., Villorbina, G., & Balcells, J. (2013). Estudiodel valor nutritio de la hoja de *Paulownia* como recursoforrajero. AIDA, XV Jornadas sobre Producciyn Animal, TomoI, pp. 240-242 (E).
9. Faithfull, N. T. (2000). Methods in Agricultural Chemical Analysis; A Practical Handbook. Cab Int., Wallingford, UK.
10. García-Morote, F. A., L´opez-Serrano, F. R., Martínez-García, E., Andr´es-Abell´an, M., Dadi, T., Candel, D., Rubio, E., & Lucas-Borja, M. E. (2014). Stem biomass production of *Paulownia elongata* × *P. fortunei* under low irrigation in a semi-arid environment. *Forests*, *5*, 2505–2520. https://doi.org/10.3390/f5102505.
11. Getachew, G., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2002). Tropical browses: contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationshipbetween short chain fatty acid and *in vitro* gas production. *Journal of Agricultural Science*, *139*, 341–352. https://doi.org/10.1017/S0021859602002393.
12. Haigh, P. M., & Parker, J. W. G. (1985). Effect of silage additives and wilting on silage fermentation, digestibility and intake and on live weight change of young cattle. *Grass and Forgae Science*, *40*(4), 429-436. https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1985.tb01774.x.
13. Huang, H., Lechniak, D., Szumacher‑Strabel, M., Patra, A. K., Kozłowska, M., Kolodziejski, P., Gao, M., Ślusarczyk, S., Petrič, D., & Cieslak, A. (2022). The effect of ensiled paulownia leaves in a high‑forage diet on ruminal fermentation, methane production, fatty acid composition, and milk production performance of dairy cows. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 13, 104. https://doi.org/10.1186/s40104-022-00745-9.
14. Huang, H., Szumacher-Strabel, M., Patra, A. K., ´Slusarczyk, S., Lechniak, D., Vazirigohar, M., Varadyova, Z., Kozłowska, M., & Cie´slak, A. (2021). Chemical and phytochemical composition, *in vitro* ruminal fermentation, methane production, and nutrient degradability of fresh and ensiled *Paulownia* hybrid leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 279, 115038. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115038.
15. Icka, P., Damo, R., & Icka, E. (2016). *Paulownia tomentosa*, a fast growing timber. *Annals of "Valahia" University of Târgovişte. Agriculture,10*, 14‑9. https://doi.org/10.1515/agr-2016-0003.
16. Kaiser, A. G., Piltz, J. W., Burn, H. M., & Grinffiths, N. W. (2004). Successful Silage, 2nd ed. Dairy Australia and NSW Dept. of Primary Industries, New South Wales, Australia.
17. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin-phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, *193*, 262–275. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6.
18. MAFF. (1982). The Analysis of Agricultural Materials, 2nd ed. Ministry of Agriculture Fisheries and FOOD, London, UK.
19. Makkar, H. P. S., Blümmel, M., & Becker, K. (1995). *In vitro* effects of and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. *Journal of Science of Food and Agriculture*, *69*, 481–

493.https://doi.org/10.1002/jsfa.2740690413.
20. Marten, G. C., & Barnes, R. F. (1980). Prediction of energy digestibility of forages within vitro rumen fermentation and fungal enzymes systems. In: W. J. Pidgen, C. C. Balch, and M. Graham Ed. Standardization of analytical methodology for feeds. International Development Research Center, Ottawa, pp. 61-71.
21. McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A., & Wilkinson, R. G. (2011). Animal Nutrition. 5th ed. Prentice Hall, Essex, UK.
22. Menke, K. H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development, 28,* 7–55.
23. Mertens, D. R. (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds using refluxing in beakers or crucibles; collaborative study. *Journal AOAC International*, *85*, 1217-1240.
24. Miller, J. L. (1959). Modified DNS method for reducing sugars. *Analytical Chemistry*, *31*, 426–429. https://doi.org/10.1021/ac60147a030.
25. Nkosi, M. T., & Mekuria, F. (2010). Cloud computing for enhanced mobile health applications. Cloud Computing Technology and Science, 2010 IEEE Second International Conference on 2010. https://doi.org/10.1109/CloudCom.2010.31.
26. Norton, B. W. (1998). The nutritive value of tree legumes. In: R. C. Gutteridge & H. M. Sheton ed. Forage Tree Legumes in Tropical Agriculture. Tropical grfor aland Society Aus. Inc., St Lucia. Queensland, Australia, pp. 15-48.
27. NRC. (2007). National Research Council, Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. Washington (DC, USA): National Academy of Sciences.
28. Özelçam, H., İpçak, H. H., Özüretmen, S., & Canbolat, Ö. (2012). Feed value of dried and ensiled paulownia (*Paulownia* spp.) leaves and their relationship to rumen fermentation, *in vitro* digestibility, and gas production characteristics. *Revista Brasileiro de Zootecnia*, *50*, e20210057. https://doi.org/10.37496/rbz5020210057.
29. Raghuvansi, S. K. S., Prasad, R., Tripathi, M. K. & Mishra, A. S. (2007). Effect of complete feed blocks or grazing and supplementation of lambs on performance, nutrient utilization, and rumen fermentation and rumen microbial enzymes. *Animal*, *1*, 221-226. https://doi.org/10.1017/S1751731107284058.
30. Rezaei, J., Rouzbehan, Y., & Fazaeli, H. (2009). Nutritive value of fresh and ensiled amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) treated with different levels of molasses. *Animal Feed Science and Technology,* 151, 153-160. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.12.001.
31. SAS Institute Inc. (2005). User's Guide: Statistics, Version 9.0 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
32. Satter, L. D., & Slyter, L. L. (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. *British Journal of Nutrition*, *32*, 199-208. https://doi.org/10.1079/BJN19740073.
33. Stewart, M., Vaidya, B., Mahapatra, A., Terrill, T., & Joshee, N. (2018). Potential use of multipurpose *Paulownia elongata* tree asan animal feed resource. *American Journal of Plant Sciences*, *9*, 1212-1227. https://doi.org/10.4236/ajps.2018.96090.
34. VanSoest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, *74*, 3583–3597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.
35. VanSoest, P. J. (1994). Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd ed. Cornell Universuty Press, Itacha, NY, USA, pp.476.
36. Vercoe, P. E., Makkar, H. P. S., & Schlink, A. C. (2010). *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritionalattributes in ruminants: Nuclear and related methodologies (2th ed.). Springer Verlag Gmbh.
37. Yadav, N. K., Vaidya, B. N., Henderson, K., Lee, J. F., Stewart, W. M., Dhekney, S. A., & Joshee, N. (2013). A review of *Paulownia* biotechnology: A short rotation, fast growing multipurpose bioenergy tree. *American Journal of Plant Science, 4*, 2070. https://doi.org/10.4236/ajps.2013.411259.